

**Über die dilatatorische Wirkung
von Tensicor am isolierten Kaninchenohr**

Wolf Dieter Gruppe

1965

Aus dem Institut für animalische Physiologie der
Universität
Frankfurt am Main

(Direktor: Prof. Dr. K. Wezler)

ÜBER DIE DILATATORISCHE WIRKUNG VON TENSICOR
AM ISOLIERTEN KANINCHENOHR

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin
der hohen medizinischen Fakultät
der

J. W. Goethe - Universität
Frankfurt am Main

vorgelegt von
Wolf Dieter Gruppe
aus Frankfurt am Main

Frankfurt am Main, Februar 1965

Dekan : Prof. Dr. med. H. Frick

Referent : Prof. Dr. Karl Wezler

Korreferent : Prof. Dr. E. Westermann

Mündliche Prüfung : 15. Februar 1965

ÜBER DIE DILATATORISCHE WIRKUNG VON TENSICOR AM ISOLIERTEN KANINCHENOHR

A Einleitung

Gegenstand der Untersuchungen war es, die dilatatorische Wirkung von Tensicor (diisopropylamindichlorazetat) quantitativ zu untersuchen, d.h. eine Dosiswirkungskurve aufzustellen. Diese Substanz wurde 1958 als Komponente des Vitamins B 15, das aus Aprikosenkernen und Reis, später auch aus Brauereihefe, Rinderblut und Pferdeleber isoliert wurde, im Infrarotspektrum erkannt. (11, 3)

Als Dichlorazetat ist es unter dem Namen Tensicor im Handel. Zunächst wurde die Wirkung der Substanz bei fortlaufender Registrierung des Blutdruckes am intakten Organismus, und zwar hauptsächlich an narkotisierten Katzen von Kraushaar untersucht. (10)

Es handelt sich hier um das einfachste Verfahren, das über eine gefäßaktive Substanz eine gewisse Aussage machen kann.

Der Blutdruck wird jedoch nerval und hormonal geregelt, und zwar durch Änderung des Minutenvolumens, des peripheren Gefäßwiderstandes und durch Änderung der Elastizität

der großen Speicherarterien. (vgl. Theorie des Blutdruckes von Wezler und Döger) (24)

Es ist deshalb mittels alleiniger Blutdruckmessung nicht möglich, über eine gefäßaktive Substanz, deren Wirkungsmechanismus unbekannt ist, eine exakte Aussage über ihren Angriffsort im Kreislauf zu machen.

Bei den Kreislaufuntersuchungen am intakten Organismus stellte man fest, daß die Grenzdosis für den Wirkungseintritt bei 0,25 mg/kg liegt. Weiterhin zeigte sich, daß bezüglich der Blutdrucksenkung eine deutliche Dosisabhängigkeit bis 5 mg/kg bestand. Darüber hinaus war keine Wirkungssteigerung vorhanden. (10)

Eine andere Methode, welche erlaubt, eine exaktere Aussage über den Wirkungsmechanismus und Angriffsort der zu untersuchenden Substanz zu machen, besteht darin, daß man diese zunächst an einem einfacheren Modell untersucht.

Wir benutzten für unsere Untersuchungen das isolierte Kaninchenohr nach Krawkow und Pissemiski. Diese klassische Versuchsanordnung der Physiologie und Pharmakologie ist deshalb für die gestellte Aufgabe besonders geeignet, weil das Kaninchenohr ein einfach gebautes Organ ist, welches aus Haut und Knorpel besteht. Da Knorpel praktisch nicht durchblutet wird, handelt es sich bei diesem Präparat um ein isoliertes Hautorgan mit

einem einfachen Gefäßbau. In diesem Organ führt eine Arterie von der Basis zur Spitze des Ohres, diese löst sich in ein Kapillarnetz auf, welches sich wieder in den Randvenen sammelt.

Als Hautorgan ist das Ohr starken Schwankungen der Durchblutung ausgesetzt, das Gefäßsystem ist deshalb höchst empfindlich.

An einem künstlich perfundierten Organ spielt nicht nur die Weitenänderung der Gefäße durch die Tätigkeit ihrer Muskulatur eine Rolle, wesentlich ist immer gleichzeitig die passive Dehnung durch den Perfusionsdruck selbst. (23, 25, 20, 18)

Bei der Notwendigkeit die Versuche über längere Zeit auszudehnen, wurde eine Apparatur gebaut, in der nicht die Stromstärke eine Funktion des vorgegebenen Druckes sondern der Druck eine Funktion der vorgegebenen Stromstärke war; ein Vorgehen, welches einige Vorteile bietet, die im methodischen Teil erläutert werden.

Weiterhin mußte eine annähernde Konstanz eines Basaltonus der Gefäße erreicht werden, denn eine dilatatorische Wirkung ist nur nachzuweisen, wenn das Gefäßsystem einen bestimmten Tonus hat. Hierzu waren Vorversuche zur Ermittlung eines geeigneten Pharmakons notwendig.

B Methodik

Das übliche Verfahren, um die Gefäßreaktionen an einem künstlich durchströmten Organ zu studieren, ist die Vorgabe eines bestimmten veränderlichen Perfusionsdruckes und die Messung der resultierenden Stromstärken.

Der Gefäßtonus ist dann aus dem Widerstand gemäß dem Poiseulleschen Gesetz für jedes i, P -Wertepaar ersichtlich.

$$(1) \quad I = \frac{P}{W}$$

$$(2) \quad W = \frac{8 \, \eta \, l}{r^4}$$

W = Widerstand	L = Länge
I = Stromstärke	r = Radius
P = Druck	η = Viscosität

Der dem Kollektiv der in Serie und parallel geschalteten Gefäße äquivalente (wirkungs-gleiche) Radius läßt sich dann nach Wezler und Sinn (25) durch Umstellung der Gleichung (2) als sogenannter "Kennradius" berechnen.

Wir haben bei unseren Versuchen aber einen anderen Weg beschritten. Es wurde nämlich eine auf bestimmte Werte einstellbare Stromstärke vorgegeben und der resultierende vor dem Eingang des Gefäßsystems stehende Druck registriert.

Dieses Vorgehen hat nicht nur den Vorteil einer einfacheren Registriertechnik, denn Drucke lassen sich viel leichter fortlaufend bei großer zeitlicher Auflösung registrieren als Stromstärken.

Wesentlich war für uns eine Überlegung über die physikalischen Zusammenhänge zwischen dem Druck als dehnender Kraft im Gefäßbaum und der Kontraktionskraft der Gefäßmuskulatur.

In eingehenden Untersuchungen haben Wezler (23) und Wezler und Sinn (25) dargelegt, welchen wesentlichen Einfluß die druckpassive Widerstandsveränderung auf die Strömungsgesetzmäßigkeiten nehmen kann. Jede Drucksteigerung erweitert bei fehlender oder nicht voll ausgleichender Gegenregulation notwendigerweise die Gefäße und setzt den hydraulischen Widerstand herab. Jeder Druckabfall läßt eine Verengung der Gefäße eintreten.

Diese Dehnbarkeit der Gefäße führt aber neben der Widerstandsänderung zu einer Änderung der auf dem Umfang eines Gefäßrohres wirkenden Kraft.

Diese aus der Kreisform resultierenden Kraftverhältnisse sind im Laplace'schen Gesetz in einfacher Form (ohne Berücksichtigung einer Spannungsverteilung innerhalb den Rohrwandungen mit endlicher Dicke) als

$$K = p \cdot r$$

niedergelegt.

K = Kraft am Umfang

p = Innendruck

r = Radius

Die Gleichung läßt erkennen, daß jede Drucksteigerung, aber auch jede Radiusvergrößerung, sei es als Folge der Drucksteigerung oder aber als Folge einer nachlassenden Muskelkontraktion, zur Vermehrung der auf dem Umfang des Gefäßrohres lastenden dehnenden Kraft führt.

Die von uns untersuchte Substanz hat eine gefäßerweiternde Wirkung, führt also zu einer Verminderung des Muskeltonus. Die resultierende Radiusvergrößerung führt dabei auch bei konstant gehaltenem Perfusionsdruck zu einer Vergrößerung der Umfangskraft (K) mit der Folge einer umso stärkeren Dilatation. Die Gefäßerweiterung wird also mechanisch verstärkt.

Für Kontraktionen mit konsekutiver Gefäßverengung gilt entsprechendes.

Die beschriebenen Verhältnisse mögen zum qualitativen Nachweis einer Gefäßwirkung günstig sein, denn kleine Änderungen der Muskelaktivität führen zu einem deutlichen Effekt, für die Aufstellung einer Dosiswirkungskurve sind sie jedoch hinderlich, denn heftige Gefäßerweiterungen schädigen das Präparat leicht durch Überdehnung der glatten Muskulatur. Die Versuchsdauer und die Zahl der Einzeltestungen wird damit beschränkt.

Bei unserem Vorgehen mit der Vorgabe der Stromstärke und der Messung des am Gefäßwiderstand des Kaninchenohres entstehenden Druckes hat jede Dilatation eine Verminderung eben dieses, das Gefäßbett dehnenden Druckes zur Folge.

Im Moment der Erweiterung mit Zunahme der die Muskulatur belastenden Kraft durch Vergrößerung des Radius wird selbsttätig der Innendruck als Faktor in der Gleichung

$$K = p \cdot r$$

vermindert, da unter konstant bleibender Stromstärke der Druck bei Widerstandsverminderung abfällt.

Für den Vorgang der Kontraktion gilt, daß jede Radiusverminderung mit der Folge einer nun geringeren Belastung der Muskelzellen durch einen Druckanstieg gegenwirkend abgeschwächt wird.

Während in einer Versuchsanordnung mit konstantem Perfusionsdruck eine Art Mitkoppelung vorliegt, dürfen wir die ausgleichende Wirkung unseres Verfahrens als Gegenkoppelung auffassen.

Die ausgleichende Wirkung aber dieser, der ursprünglichen Wirkung entgegengesetzten Effekte hat zwei Vorteile:

- 1.) Die Ausgangslage des Systems wird stabilisiert mit der Möglichkeit, die Versuchsdauer auszudehnen.
- 2.) Die Skala der quantitativen Effekte wird notwendigerweise feiner, da die fortwirkende sich mechanisch bis zum Verschuß des Gefäßbettes potenzierende Wirkung einer Kontraktion und die bis zur Dehnungsbegrenzung laufende Dilatation mit der Gefahr einer Überdehnung ausgeschlossen werden.

C Apparatur

Die Erzeugung einer konstanten und willkürlich einstellbaren Stromstärke zur Perfusion des Kaninchenohres ließe sich durch eine Pumpe oder eine motorbetriebene Spritze bewerkstelligen.

Wir sind aber einen mechanisch einfacheren Weg gegangen.

Verschiebt man die Perfusionsflüssigkeit durch sehr hohe Drucke über einen ebenfalls hohen hydraulischen Widerstand (W_1), so ist der Effekt des angeschlossenen Widerstandes (W_2) (Gefäßbett des Kaninchenohres) nur gering.

Formal lassen sich die Verhältnisse durch eine Rechnung entsprechend einer elektrischen Reihenschaltung (Ohm'sches Gesetz) darstellen.

Wenn W_1 sehr viel größer als W_2 ist, gilt als Näherung:

$$P_2 = W_2 \cdot \frac{P_1}{W_1} = W_2 \cdot I$$

Der registrierte Druck ist also bei konstanter Stromstärke I dem Gefäßwiderstand direkt proportional.

Wir haben in unseren Versuchen einen treibenden Druck $P_1 = 5 \text{ Atü}$ verwandt.

Rechnet man mit einem Druckintervall von 200 mm/Hg für P_2 , das ist der Druck am Kaninchenohr, so ergibt sich für die Relation von $P_1 : P_2$

$$\frac{P_1}{P_2} = \frac{760 \cdot 5}{200} = 19 : 1$$

Die Abweichung der vorgegebenen Stromstärke vom eingestellten Maximalwert bei $P_2 = 0$ ergibt sich dann aus der Beziehung

$$\begin{aligned} \frac{I_{\min}}{I_{\max}} &= \frac{P_1 - P_2^{\max}}{W_1} \cdot \frac{W_1}{P_1 - P_2^{\min}} = \\ &= \frac{760 \cdot 5 - 200}{760 \cdot 5} = \frac{3800 - 200}{3800} = 0,95, \end{aligned}$$

also zu 5 % .

Unsere Perfusionsapparatur (Abb. 1, S. 32) bestand aus vier Kunststoffzylindern (Makrolon) mit einem Fassungsvermögen von je 300 ml. Diese waren fest in ein Mantelgefäß, das aus Plexiglas gebaut war, eingelassen. Das Mantelgefäß wurde mit Leitungswasser durchströmt, welches mit Hilfe eines Thermostaten konstant auf einer Temperatur von 37 Grad Celsius gehalten wurde. Eine Wärmeschichtung wurde dadurch verhindert.

Die Zylinder waren oben mit einer Metallplatte abgeschlossen, welche im Zentrum eine Bohrung aufwies und mit einem Metallhahn verschlossen werden konnte. Hier wurde der Sauerstoff eingeleitet, der bei unseren Versuchen als Treibgas diente. Alle vier Kunststoffbehälter standen während des Versuchsablaufes unter einem konstanten Druck von 5 Atü.

Die Perfusionsflüssigkeit wurde am Boden des Gefäßes abgeleitet. Der Abfluß konnte hier ebenfalls durch einen Hahn (H) abgestellt werden. Die vier Ausgänge waren mit kurzen Verbindungsschläuchen aus Polyäthylen an ein Kupplungsstück angeschlossen. Von dort wurde die Flüssigkeit über einen starken Widerstand (W) in Form einer von uns geeichten Metallkanüle getrieben.

Die Perfusionslösung wurde hier nochmals durch einen Wärmemantel (H)₂ auf 37 Grad Celsius gebracht. Von dort führte der Weg über ein kurzes Verbindungsstück direkt zu der Glaskanüle, welche in die Ohrarterie eingebunden wurde.

An einer Abzweigung vor der Perfusionskanüle wurde der Druck mit einem Statham-Element (St) (Typ PG 23) gemessen. Nach Verstärkung der elektrischen Werte durch einen Atlas-Druckverstärker (V) wurde der Druck durch ein Galvanometer (R) auf den Film registriert.

Die nochmalige Erwärmung der Perfusionslösung war notwendig geworden, um störende Einflüsse auf den Versuchsablauf durch Kältekontraktion am Gefäßpräparat, die wir bei Vorversuchen beobachten konnten, auszuschalten.

Weiterhin wurde eine Übersichtung der Perfusionslösung mit Paraffin (Par) erforderlich, weil sich herausstellte, daß sich bei dem hohen Treibdruck von 5 Atü viel Sauerstoff in dem Perfusat löste. Dieser wurde aber wieder an der Perfusionskanüle frei, wo nur noch ein Druck von 20 bis 200 mm/Hg bestand. Es entstanden so in den Vorversuchen gehäuft Luftembolien an unserem Gefäßpräparat, die stets zum Versuchsabbruch führten.

Als Perfusionslösungen kamen innerhalb der Versuchsreihe zur Verwendung:

- 1.) Ringer-Kollidon-Lösung (Kollidon 60 g auf 1000 ml Ringer-Lösung)
- 2.) Ringer-Kollidon und Rinderserum im Verhältnis 4 : 1.
- 3.) Ringer-Kollidon-Serum und Tensicor in wechselnder Konzentration 10^{-4} bis 10^{-2} .

Ringerlösung (Muralt) NaCl 9,0, KCl 0,42, CaCl₂ 0,24, NaHCO₃ 0,5, MgCl₂ 0,025 auf 1000 ml Aqua dest.

Mit der Apparatur war somit eine Methode gefunden worden, welche es ermöglichte, während einer langen Versuchsdauer an dem Gefäßpräparat zu experimentieren.

Daneben war es aber nun dringend erforderlich, ein geeignetes Pharmakon zu finden, welches am Präparat einen möglichst konstanten Dauertonus bewirkte. Dies wurde zu Beginn der Arbeit als Voraussetzung für unsere Versuche gefordert.

Zuerst benutzten wir Adrenalin und Noradrenalin, welches wir der Perfusionslösung in verschiedenen Konzentrationen zusetzten.

Es zeigte sich aber, daß beide Substanzen nur für kurze Zeit wirksam waren.

Als Brenzkatechinderivate sind Adrenalin und Noradrenalin sehr leicht oxydabel, und zwar durch Oxydation an den ringständigen OH-Gruppen besonders bei neutraler und alkalischer Reaktion. Auch dürfte die Temperatur von 37 Grad Celsius diese Umwandlung begünstigt haben. Der Abbau-mechanismus war schon makroskopisch an der Rotverfärbung des Perfusates zu erkennen (Adrenochrom). (1)

Der schnelle Abbau von Adrenalin hätte z.B. durch Einstellen der Perfusionsflüssigkeit auf pH₄ reduziert werden können.

Dieses Vorgehen empfiehlt sich jedoch nicht, weil wir mit möglichst physiologischen Lösungen arbeiten wollten.

Weiterhin wäre der oxydative Abbau von Adrenalin durch reduzierende Stoffe wie Sulfit oder Ascorbinsäure hemmbar gewesen. (1)

Auch Eiweiß, Aminosäuren und Serum hemmen den oxydativen Abbau von Adrenalin und Noradrenalin. (Wiltshire 1931) (26)

Den letztgenannten Effekt konnten wir auch bei unseren Vorversuchen beobachten, als sich eine geringgradige Wirkungsverlängerung von Adrenalin bzw. von Noradrenalin bei Anwesenheit von Serum zeigte.

Als nächstes Präparat benutzten wir Hypertensin (Ciba). Auch mit diesem Pharmakon konnte bei therapeutischen Dosen von 5 bis 10 gamma/ml an dem isolierten Kaninchenohr kein konstanter Basistonus eingestellt werden.

Wir griffen deshalb zuletzt auf Fremdserum in Form von Rinderserum zurück, von dem bekannt ist, daß es viel nachhaltiger und konstanter auf die Gefäßmuskulatur wirkt als Adrenalin.

Es ist schon lange bekannt, daß defibriniertes Blut gefäßverengend wirkt. Und zwar ist nur Serum wirksam. (Brodie 1900 und 1903) (2)

Man sprach diese Wirkung den sogenannten Spätgiften des Serums zu. (Freund 1920) (5)
Diese waren wirkungsmäßig gegen das Adrenalin dadurch abzugrenzen, daß sie auch andere glattmuskuläre Organe, so z.B. die Darmmuskulatur erregten. (O'Connor 1912) (13)

Eine wirksame Substanz wurde aus Rinder Serum durch alkoholische Extraktion isoliert. (Rapport 1949) (15) Ihre Synthese gelang 1951 Hamlin und Fischer. (8) Der Stoff wurde Serotonin genannt.

Serotonin wird im Darm von den Hellen Zellen gebildet und nach der Resorption durch die Thrombocyten aufgenommen und dort vor dem Abbau durch die Monoaminoxidasen geschützt. Beim Zerfall der Blutplättchen wird Serotonin frei.

Es besteht eine Beziehung zwischen der vaso-konstriktorischen Aktivität des Serums und der Thrombocytenzahl. (Reid und Bick 1942). (16)

Plasma ist nur konstriktorisch wirksam, wenn die Blutplättchen irgendwie beschädigt werden, so z.B. durch längeres Stehenlassen oder Zentrifugieren. (Warburg, Onaka 1911) (22)

Serum enthält, wie jetzt zunehmend bekannt wird, ferner eine Anzahl verschiedener gefäßaktiver Substanzen, die aus den α_2 - Globulinen des

Serums durch spezifische Fermente gebildet werden, wie z.B. das Hypertensin (Angiotensin), Pepsitensin und das Bradykinin (Kallidin). (1, 7, 17)

Es handelt sich hier um Stoffe, die den Hormonen des Hypophysenhinterlappens verwandt sind und chemisch Polypeptide darstellen. (1)

Hypertensin konnte bei Hypertonikern vermehrt im Serum festgestellt werden. (19)

Umgekehrt führt Eiweißmangel durch Abnahme des Substrates zur Hypotonie wie Holtz und Mitarbeiter nachweisen konnten. (9)

Die Gefäßwirkung von Rinderserum ist nach allem also nicht auf eine bestimmte Substanz zurückführbar.

Da für die vorgelegten Versuche die Erzeugung eines Basaltonus der Gefäße das Wesentliche ist und alle überhaupt möglichen Auslösungen am glatten Gefäßmuskel selbst anzusetzen haben, haben wir von der Anwendung gereinigter Kontraktionssubstanzen abgesehen.

Auch Ohren, die vom Tier ein bis zwei Tage getrennt im Eisschrank bei ca. 4 Grad aufbewahrt wurden, zeigten auf Serum noch eine sichere Gefäßkontraktion und auf Tensicor eine

sichere Dilatation. Der muskuläre Ansatzpunkt des Serums wie des Tensicors ist so schon sehr wahrscheinlich.

Fremdserum zeigte am isolierten Kaninchenohr eine außerordentliche Konstanz bei der Einstellung eines Basaltonus. Bei unseren Versuchen fand sich niemals ein Spasmus der Gefäßmuskulatur, was wohl auf die von uns benutzte Perfusionsapparatur zurückzuführen war.

Als günstigstes Mischungsverhältnis zur Ringer-Kollidon-Lösung wurde ein Teil Serum auf vier Teile Ringer-Kollidon ermittelt.

Im Eisschrank aufbewahrt konnte das Serum bis zu 6 Tagen verwandt werden. Es zeigte sich jedoch nach dem vierten Tag ein deutlicher Wirkungsabfall. Deshalb benutzten wir für unsere Versuche nur Serum, welches nicht älter als vier Tage war, um eine Konstanz in der Wirkung zu haben.

D Versuchsablauf und Ergebnisse

Als Versuchstiere dienten Kaninchen verschiedenen Alters und Geschlechts, die ein Lebendgewicht von etwa 2,5 bis 3,0 kg besaßen. Insgesamt wurden 48 Versuche durchgeführt, davon wurden 45 ausgewertet.

Die Tiere wurden durch subcutane Injektion im Bereich der Rückenpartie mit 20 %-igem Äthylurethan (8 ml/kg) narkotisiert. Nach einer Stunde wurden die Tiere getötet, indem beide Halsschlagadern nach deren Aufsuchen durchschnitten wurden. Etwa zehn Minuten zuvor injizierten wir dem Kaninchen intravenös 10 ml einer 2 %-igen Polyäthensulfosauren Natrium-Lösung. Damit wurde der Gefäßverschluß durch Thromben am Versuchspräparat verhindert. Beide Ohren schnitten wir nach dem Ausbluten des Tieres sofort ab. Für jeden Versuch benutzten wir ein Ohr. Nach Präparation der Ohrarterie wurde die Kanüle in typischer Weise in das Gefäß eingebunden.

Die Perfusionslösungen waren schon zuvor angesetzt, und in einem Wasserbad auf 37 Grad Celsius erwärmt. Aus dem Perfusionsystem war sorgfältig die Luft entfernt worden. Nach Einführen der Kanüle wurde das Präparat zunächst etwa 3 Minuten bei einem Druck von 20 mm/Hg mit Ringer-Kollidion-Lösung durchströmt, um Reste des Blutes aus

den zu untersuchenden Gefäßen zu spülen. Um konstante Ergebnisse zu gewinnen, nahmen wir stets nur frische Kaninchenohren, weil uns Vorversuche gezeigt hatten, daß ältere Präparate keine ausreichende Empfindlichkeit für unsere Versuche mehr zeigten. Außerdem fand sich bei alten Ohren eine weitaus höhere Oedembereitschaft schon nach kurzer Versuchsdauer.

Mit den von uns benutzten frischen Präparaten konnten wir immerhin bis zu maximal 2,5 Stunden experimentieren, ohne irgendwelche Veränderungen an dem biologischen Präparat festzustellen.

Nachdem das Gefäßnetz des Kaninchenohres ausreichend durchspült war, begannen wir mit unseren Messversuchen. Dazu wurde zunächst immer das Gefäßsystem durch Ringer-Kollidon-Serum-Perfusat tonisiert. Nachdem ein konstanter Tonus erreicht war, wurde auf die Perfusionslösung mit Tensicor, das in jeder Versuchsreihe in zwei verschiedenen Konzentrationen angesetzt war, umgeschaltet. Als sich hier ein neuer Gleichgewichtszustand des Tonus einstellte, wurde das Gefäßsystem erneut mit Rinder-serum-Kollidon höher tonisiert.

Wird die Dilatationswirkung einer Substanz untersucht, so ist das Maß der relativen Wirkung anzusetzen.

Es gelingt aber nicht, die Dehnbarkeit der Gefäße als Ausdruck ihrer Kontraktion physikalisch zu prüfen, ohne durch die Belastungsänderungen das Präparat für den weiteren Versuchsablauf zu verändern. Die Gefäßverengung auf Serum ist an den einzelnen Ohren wechselnd. Die dilatatorische Wirkung von Tensicor könnte daher in Beziehung zum Ausmaß der jeweiligen Widerstandserhöhung (diese wiederum gemessen am Verhalten des Präparates unter Perfusion ohne kontrahierende Substanz) gesetzt werden.

Es hat sich aber gezeigt, daß die Dilatation wie die Kontraktion auch innerhalb eines Versuches Schwankungen unterliegt, die eine ständige Orientierung am Ausgangszustand schwer macht. Um die Ausgangslage, beschreibbar als Tonus, herauszuheben, haben wir daher die Ergebnisse von vornherein als ungerichtet streuend auffassen müssen. In den graphischen Darstellungen der Ergebnisse sind daher Mittelwerte mit ihrer Streuung (Standard-Abweichung) angegeben.

Bei der Perfusion mit Ringer-Kollidon-Lösung lag der mittlere Druck bei 20 mm/Hg, während der Druck bei der Durchströmung mit Ringer-Kollidon und Serum im Durchschnitt bei 150 mm/Hg lag. Die Versuchsdauer betrug etwa 1,5 Stunden. Dabei waren im Mittel 14 Umschaltungen möglich.

Im ersten Teil unserer Versuche arbeiteten wir nur mit einer einzigen Konzentration von Tensicor an verschiedenen Ohren. Im zweiten Versuchsteil experimentierten wir mit verschiedenen Tensicor-Konzentrationen an einem Ohr.

Gleiches Angebot des Perfusates, des Pharmakons und gleiche physikalische Belastung ist für pharmakologische Untersuchungen am isolierten Gefäßpräparat von entscheidender Bedeutung.

Das gleiche Angebot an Perfusionsflüssigkeit war durch die Bauart unserer Perfusionsapparatur gegeben (im Gegensatz zu einer Apparatur, die mit konstantem Druck arbeitet), denn die Druckverhältnisse regulieren sich selbständig entsprechend dem jeweiligen Funktionszustand der Muskulatur.

Wir hätten weiterhin auf gleiche Zeiträume für die Durchströmung mit den verschiedenen Perfusaten normieren können, haben aber davon abgesehen, weil die Zeiträume bis zum Erreichen der Gleichgewichte für den Vorgang der Dilatation und Kontraktion unterschiedlich waren. Bei der zeitlichen Normierung wäre der Vorgang mit der größten Zeitkonstante bestimmend gewesen. In unseren Versuchen wurde also das Perfusat jeweils gewechselt, wenn ein neuer Gleichgewichtszustand sicher erreicht war.

Die gegen die Zeit (Papiergeschwindigkeit 1 mm/sec) registrierte Druckkurve, als un-mittelbares Bild der Gefäßwiderstände, wurde an den Punkten maximaler Wirkung ausgemessen und tabelliert. Dabei wurde im Falle mehr-facher Maxima bzw. Minima die stärksten Extrempunkte gewertet. (vgl. Originalkurve der Abb. II, S. 33)

Wenngleich es bei der zeitlichen Ausdehnung der Versuche zu einem geringen Nachlassen der konstriktorischen Wirkung des Serums kommt (und zwar zum Großteil bedingt durch die mehr-fachen Dilatationen, die durch das zu prü-fende Pharmakon hervorgerufen werden), kann man während des Versuchsablaufes nur unsyste-matische Schwankungen des Ausgangstonus beobachten.

Um die sicher vorhandene Abhängigkeit der dilatatorischen Wirkung von der Ausgangslage für unsere Auswertung gering zu halten, haben wir die Widerstandsänderung auf die Ausgangs-widerstände relativ bezogen.

$$\Delta R \% = 100 \left(1 - \frac{R}{R_a} \right)$$

$\Delta R \%$ = Relative Widerstandsverminderung durch Dilatation.

R_a = Ausgangswiderstand.

R = Widerstand nach Dilatation.

Die Normierung ist zunächst willkürlich, kann aber gar nicht anders getroffen werden, da über den Wirkungszusammenhang zwischen der Aktivierung der Muskulatur und den letztlich resultierenden Gefäßwiderständen weder pharmakologisch noch physikalisch genügend Kenntnisse bestehen.

In der Abbildung (3) haben wir die erste Gruppe unserer Versuche (Prüfung jeweils einer Konzentration an einem Ohr) graphisch dargestellt. Auf der Abszisse sind die jeweils angewendeten Konzentrationen von Tensicor im logarithmischen Maßstab eingetragen. Auf der Ordinate sind die jeweils eingetretenen Druckminderungen als Folge der Tensicorapplikation in der Relation R % aufgetragen, so daß die stärkere dilatatorische Wirkung einem größeren Ordinatenwert entspricht. Die Ergebnisse der einzelnen Versuche sind in ihrem Mittelwert und den Standardabweichungen für sämtliche Einzelwerte eingetragen. Versuche, welche die gleiche Konzentration betreffen, sind in der Ausdehnung der Abszisse eng nebeneinander gezeichnet und sind jeweils dem zahlenmäßig angeschriebenen Konzentrationswert zuzuordnen.

Man erkennt deutlich, daß die Wirkung bei einer Konzentration von $5 \cdot 10^{-4}$ einsetzt. Bei niedrigerer Konzentration dürfte eine statistische Sicherung eines schwachen Effektes sehr schwierig sein.

Bei einer Konzentration von $2 \cdot 10^{-3}$ ist das Maximum der dilatatorischen Wirkung mit 40 - 50 % erreicht. Darüberhinaus kommt es zu keiner wesentlichen dosisabhängigen Wirkungssteigerung mehr.

Ein Effekt, der sicherlich gleichermaßen pharmakologisch wie auch physiologisch begründet ist. Jedes gefäßaktive Pharmakon dürfte bei einer bestimmten Konzentration einen maximalen primären Effekt haben.

Weiterhin hat die Dilatation der Gefäße eine Grenze, die durch die nicht aktiv veränderlichen anatomischen Strukturen bedingt ist. Für unser Versuchsverfahren kommt dazu, daß die Extremsituation einer maximalen Dilatation durch die Gegenkoppelung vermieden wird.

Während die erste Versuchsreihe eher zur Sicherung einer relativ gleichmäßigen Wirkung einer Konzentration an ein und demselben Präparat geeignet ist, ist unsere zweite Versuchsgruppe, bei der verschiedene Konzentrationen (maximal drei) an jeweils einem Ohr wirksam werden, eher geeignet, die Wirkungsunterschiede verschiedener Konzentrationen darzustellen.

In der Abbildung (4) haben wir die zweite Gruppe unserer Versuche graphisch dargestellt. Die Versuchsergebnisse wurden in gleicher Weise wie vorher die der ersten Gruppe in ein Koordinatensystem eingetragen, und zwar wieder

jeweils die Mittelwerte und die Standardabweichungen für sämtliche Einzelwerte. Die Abszisse weist wiederum einen logarithmischen Maßstab auf. Der Verlauf der Dosiswirkungskurve wird nochmals bestätigt.

Neben dem Verlauf der Dosiswirkungskurve interessiert die Absolutstärke der dilatatorischen Wirkung, und dies besonders im Vergleich zu anderen gleichwirkenden Substanzen.

Vir haben daher noch ergänzende Versuche mit Papaverin durchgeführt.

Ihre Ergebnisse sind in der graphischen Darstellung Abbildung (5) niedergelegt.

Der Wirkungseintritt einer Dilatation lag bei Papaverin bei einer Konzentration von 10^{-4} .

E Diskussion

Wie aus der Arbeit von Kraushaar und Mitarbeitern hervorgeht, liegt der Hauptangriffspunkt von Tensicor an den muskulären Elementen der peripheren Gefäßgebiete. Aufgrund dieser Ergebnisse mußte die Auswahl des biologischen Präparates auf das isolierte Kaninchenohr fallen, das, wie schon ausgeführt, ein reines Hautgefäßpräparat darstellt, in welchen alle nicht lokalen nervösen und humoralen Einflüsse ausgeschaltet sind. Außerdem handelt es sich hier um ein sehr empfindliches Präparat.

Bei dem Bau der Perfusionsapparatur haben wir die Ergebnisse der Untersuchungen von Wezler, Sinn, Schönbach und Röckemann berücksichtigt, (23, 25, 18) die eingehende Untersuchungen zur druckpassiven Dehnung der Gefäße durchgeführt haben.

Bei der Suche nach einem geeigneten Pharmakon zur Erzielung eines konstanten Dauertonus zeigte sich, daß an diesem einfachen Präparat die gereinigten gefäßaktiven Substanzen auf die Dauer aus schon beschriebenen Gründen nicht wirksam waren. Wir haben deshalb Rinderserum benutzt, in dem ausser Serotonin gefäßaktive Polypeptide enthalten sind. Das Serum war einfach zu dosieren und zeigte während des Versuchsablaufs eine annähernd gleiche Wirkung.

Aus den dargestellten Versuchsergebnissen geht hervor, daß die Substanz Diisopropylamindichlorazetat dilatierend auf die Gefäßperipherie wirkt.

Diese Wirkung war sicher im Mittel bis zu 15 mal wiederholbar. Nach dem Umschalten auf die Testsubstanz zeigte sich der Wirkungseintritt nach gleicher Zeit (nach etwa 20 Sekunden. Verzögerung des Wirkungsbeginnes durch Antransport und Diffusion). Tachyphylaxie konnte bei unseren Versuchen nicht beobachtet werden. Kraushaar und Mitarbeiter konnten schon feststellen, daß nur die einmalige Applikation übermäßig hoher Dosen zu einer Wirkungsabschwächung im Laufe der Versuche führt, dagegen führen protrahiert verabfolgte Dosen über lange Zeit zu keiner Wirkungsabschwächung.

Die Wirkung war vollständig "auswaschbar". Auch nach hohen Dosen von Tensicor setzte nach Umschalten auf Serum die Kontraktion ohne sichtbare Verzögerung und im vollen Ausmaß ein.

Die Grenzdosis der Wirkung liegt bei $5 \cdot 10^{-4}$. Es kommt zu einem steilen Wirkungsanstieg bis zu einer Konzentration von $2 \cdot 10^{-3}$. Darüber hinaus war keine dosisabhängige Wirkungssteigerung mehr feststellbar. Als Vergleichssubstanz bot sich Papaverin an, das ebenfalls direkt an der glatten Muskulatur ansetzt. Die Grenzdosis lag dort bei 10^{-4} für den Wirkungseintritt.

F Zusammenfassung

Die Dilatationswirkung von Tensicor (Diisopropylamindichlorazetat) wurde am isolierten Kaninchenohr unter Einwirkung von Rinderserum aus der relativen Widerstandsverminderung bestimmt.

Dabei wurde eine konstante Stromstärke durch eine neuartige Perfusionsapparatur vorgegeben und der Druck als Folgegröße fortlaufend registriert. Bei konstantem Substratangebot wurden so die Extremzustände des totalen Gefäßverschlusses und der Dehnung bis zur Akkomodation vermieden. Tensicor zeigte eine sicher eintretende dilatatorische Wirkung, die ohne erkennbare Abschwächung über die Versuchsdauer von 1,5 Stunden bei 10 bis 15 Prüfungen wiederholbar ist. Gemessen am Papaverin ist die Grenzdosis etwas geringer. Sie liegt bei einer Konzentration von $5 \cdot 10^{-4}$. Die maximale Wirkung tritt bei einer Konzentration von $2 \cdot 10^{-3}$ ein. Darüberhinaus besteht keine dosisabhängige Wirkungssteigerung mehr.

Auch bei hohen Konzentrationen des Pharmakons bleibt dieses gut auswaschbar, insbesondere zeigen die zeitlichen Verhältnisse der Dilatation und der Kontraktion keine erkennbare Dosisabhängigkeit.

Literaturverzeichnis

1. Ammon, R. u. Dirscherl, W.: Fermente, Hormone, Vitamine und die Beziehung dieser Wirkstoffe zueinander. Thieme, Stuttgart, 3. Auflage, Band II, (1960), 767 ff.
2. Brodie, T.G.: J. Physiol. 26 (1900/01), 48 u. 29 (1903), 266 zit. n. Ammon, R. u. Dirscherl, W.: Fermente, Hormone, Vitamine. Thieme Stuttgart 1960, 3. Aufl., Band II, S. 767.
3. Casu, B., Dansi, A., Reggiani, M., Zanini, C.: Boll. Chim. Farm. 97 (1958), 3 zit. n. Kraushaar, A.: Arzneim.-Forsch. 13 (1963), 109.
4. Erspamer, V.: Pharm. Rev. Baltimore, 6 (1954), 425 zit. n. Ammon, R. u. Dirscherl, W.: Fermente, Hormone, Vitamine. Thieme Stuttgart 1960, 3. Aufl. Band II, S. 799.
5. Freund, H.: Über die pharmakologische Wirkung des defibri- nierten Blutes (1. und 2. Mitteilung): Arch. exp. Path. Pharm. Leipzig 86 (1920), 266 und 88 (1920), 39. Studien zur unspezifischen Reiztherapie, Arch. exp. Path. Pharm. Leipzig 91 (1921), 272.
6. Gaddum, J.H.: Antagonism between lysergic acid, diethylamide and 5-hydroxytryptamine. J. Physiol. 121 (1953), 15.
7. Guth, P., Cano, G., Jaramillo, J.: The Effect of Bradykinin on Vascular Smooth Muscle. Ann. N. Y. Acad. of Sciences 104 (1963), 69.
8. Hamlin, K.E. u. Fischer, F.E.: The Synthesis of 5-Hydroxy- tryptamine. J. Amer. chem. Society 73 (1959), 5007.
9. Holtz, F., Kroneberg, G., Schümann, H.J., Oklitz, W.: Klin. wochenschr. (1949), 338. Eiweißmangel und Hypotonie.
10. Kraushaar, A., Schunk, R., Thym, H.: Zur Pharmakologie des Diisopropylamins. Arzneim.-Forsch. 13 (1963), 109.
11. Krebs, E.T.: Internat. Rec. med. 164 (1951) 18 zit. n. Kraus- haar, A. Arzneim.-Forsch. 13 (1963), 109.
12. Krawkow, K. u. Pissemski, S.: zit. n. Ther. Pharm. Methoden, Wiss. Verlagsgesellschaft Stuttgart (1949), 193.
13. O'Connor, J.H.: Über den Adrenalingehalt des Blutes. Arch. exp. Path. Pharm. Leipzig 67 (1912), 195.

14. Rapport, M.M., Green, A.A. u. Page, I.H.: Partial Purification of the Vasoconstrictor in Beef Serum. J. Biol. Chem. Baltimore 174 (1948), 735. Serum Vasoconstrictor (Serotonin), J. Biol. Chem. Baltimore 176 (1948) 1237.
15. Rapport, M.M.: Serum Vasoconstrictor (Serotonin), J. Biol. Chem. Baltimore 180 (1949), 961.
16. Reid, C. u. Bick, M.: Pharmacologically Aktive Substances in Serum, Austr. J. exp. Biol. 20 (1942), 33.
17. Rocha E Silva, M.: The Physiological Significance of Bradykinin. Ann. N. Y. Acad. of Sciences 104 (1963), 190.
18. Röckemann, W. u. Kriegelstein, E.: Zur druckpassiven Dehnung der arteriellen Widerstandsgefäße Arch. f. Kreislaufforsch. 34 (1961), 1 - 18.
19. Skeggs, L.T.jr., Kahn, J.R.: Renal Pressor System Hypertension. Circulation 17 (1958), 658.
20. Schönbach, G.: Der "Kennquerschnitt", als Maß für Änderungen des wirksamen Querschnittes der Blutstrombahn. Z. exp. Med. 127 (1956), 517.
21. Tredelenburg, P.: Über die Adrenalin-konzentrationen im Säugetierblut. Arch. exp. Path. Pharm. Leipzig 79 (1915), 154.
22. Warburg, O.: Münch. med. Wochenschr. 6 (1911) und Zeitschr. f. physiol. Chem. 71 (1911) zit. n. Freund, H.: Arch. exp. Path. Pharm. Leipzig 88 (1920), 39.
23. Wezler, K.: Das Strömungsgesetz im Kreislauf. Ber. ges. Physiol. 147 (1951/52), 366.
24. Wezler, K. u. Böger, A.: Die Dynamik des arteriellen Systems. Erg. Physiol. 41 (1939), 292.
25. Wezler, K. u. Sinn, W.: Das Strömungsgesetz des Blutkreislaufes. Editio Cantor Aulendorf (Württ.) 1953.
26. Wiltshire, M.O.P.: The Influence of Tissues and Amino-Acids on the Oxydation of Adrenaline. J. Physiol. 72 (1931) 88.

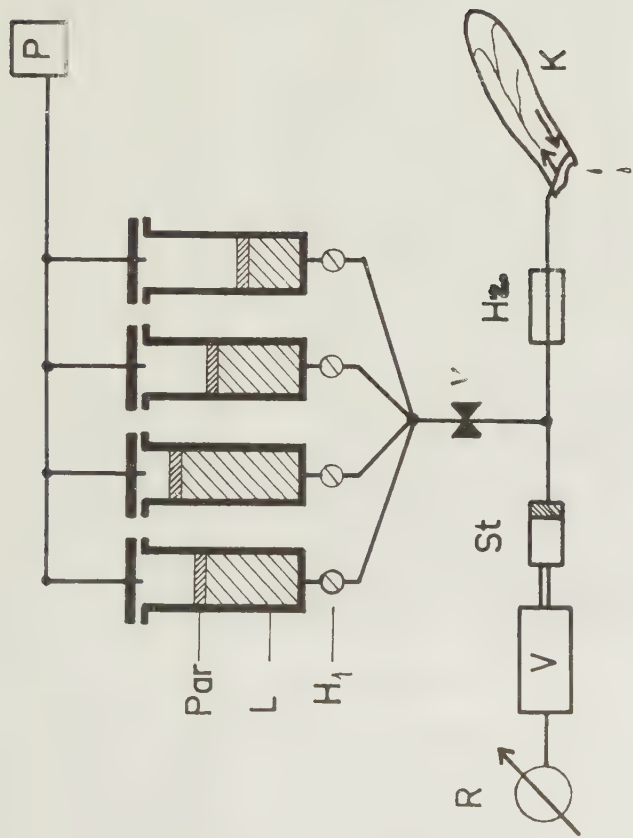


Abb. I Seite 32

Abbildung der Perfusionsapparatur

Par. = Paraffin, L = Perfusionslösung, H₁ = Abstellhebel
W = Widerstand (W₁), St = Statham-Element, V = Atlas
Druckverstärker, R = Registriergerät, H₂ = Heizelement,
P = Druckreservoir (Sauerstoffbombe).

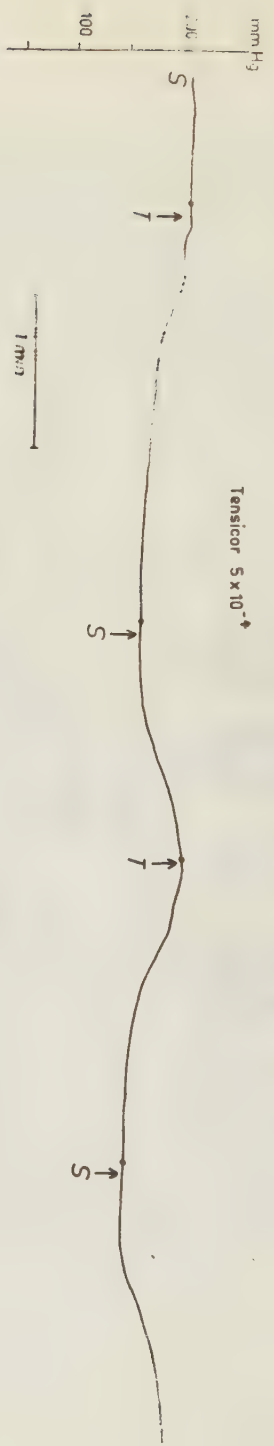
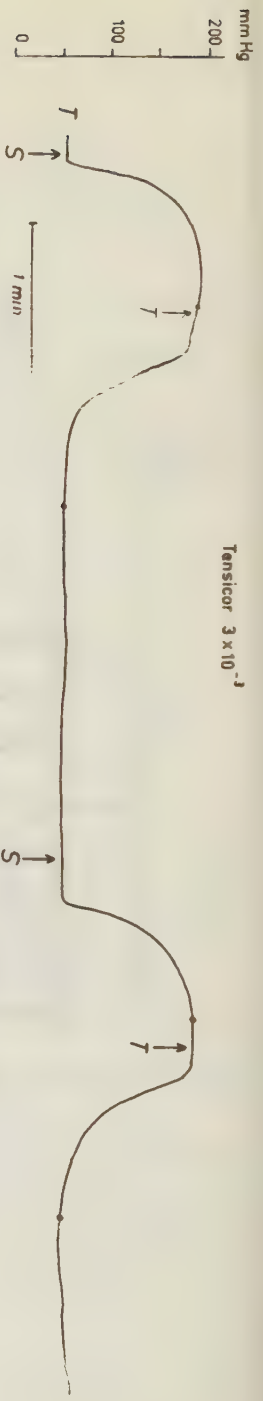


Abb. II Seite 33

Originalkurven aus den Versuchen Nr. 26 u. 42

T = Tensicor

S = Umschaltmoment

ABBILDUNG

$\Delta b\%$

80

70

60

50

40

30

20

10

10

20

10^{-4}

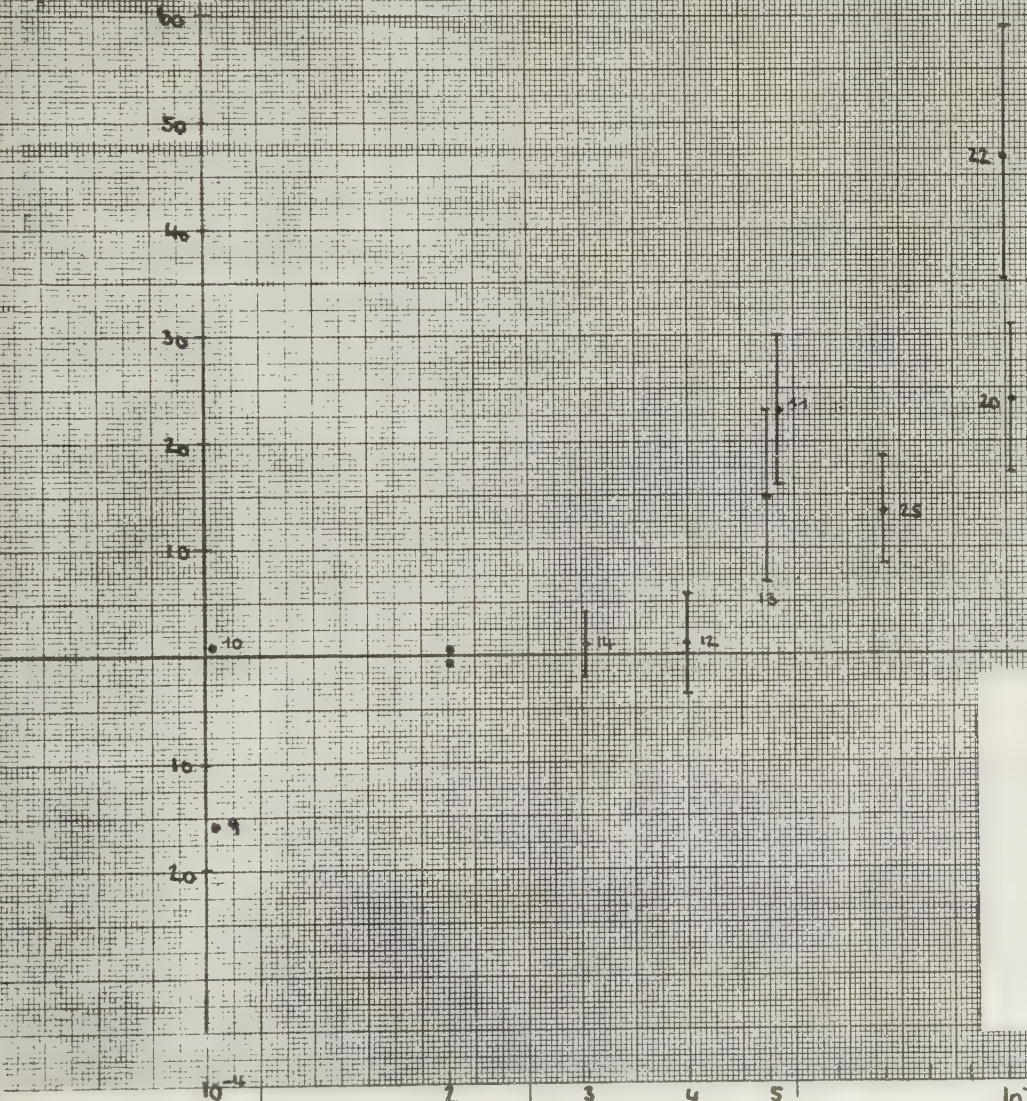
2

3

4

5

10^{-3}



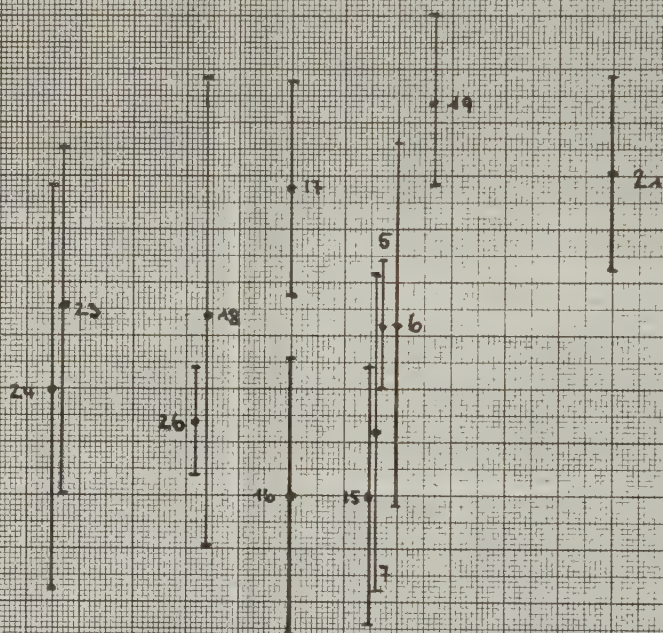


Abb. III Seite 34

Perfusionsversuche am isolierten Kaninchenohr mit einer einzigen Konzentration von Tensicor.

Ergebnisse eines Versuches sind in den Mittelwerten mit ihrer Streuung (Standardabweichung) angegeben.

Abszisse - Tensicorkonzentration (logarithmischer Maßstab.)

Ordinate - Widerstandsänderung bezogen auf den Ausgangswiderstand (die Werte für Serum) in Prozent.

2 3 4 5 10^{-2}

DILATATION

KONTRAKTION

46 %

80

70

60

50

40

30

20

10

10

20

10^{-4}

2

3

4

5

10^{-4}

Perfu
Tensi
Ergeb
Streu
Abszi
Ordin
stand

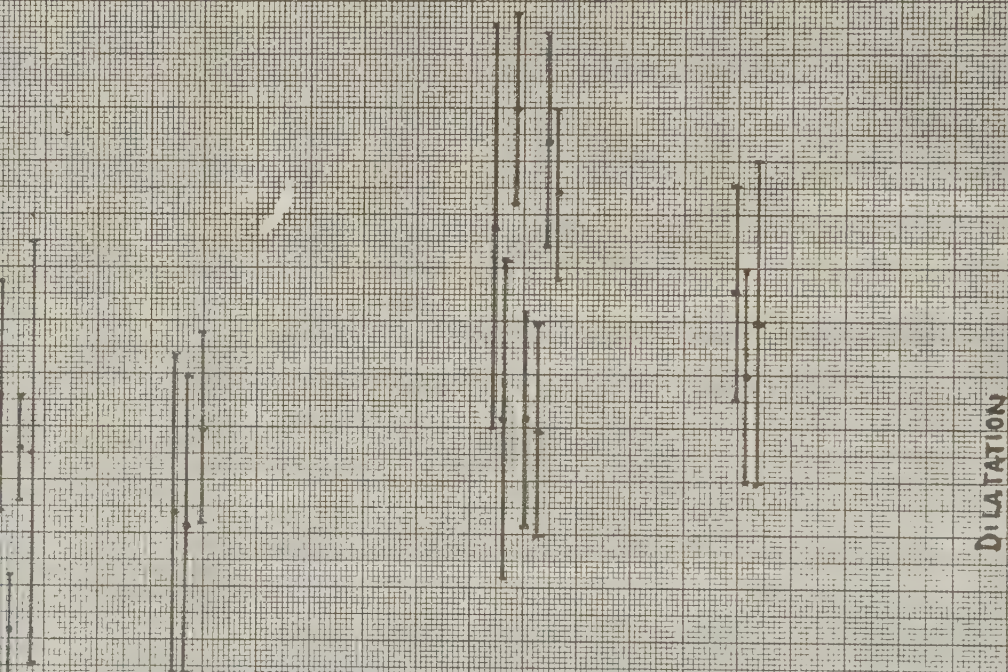
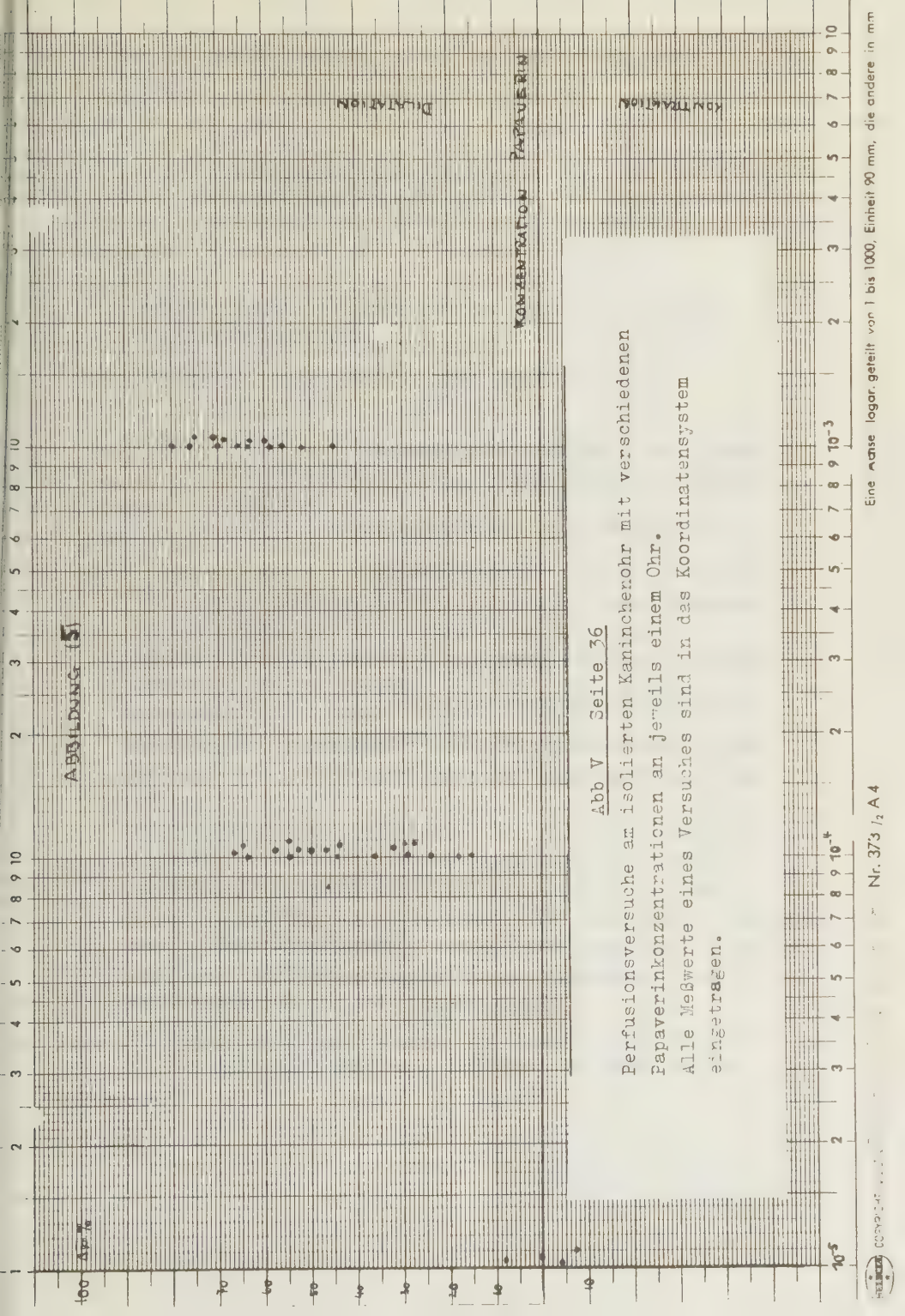


Abb. IV Seite 35

onsversuche am isolierten Kaninchenohr mit verschiedenen
 rkonzentrationen an jeweils einem Ohr.
 esse eines Versuches sind in den Mittelwerten mit ihrer
 g (Standardabweichung) angegeben.
 e - Tensicorkonzentration (logarithmischer Maßstab)
 e - Widerstandsänderung bezogen auf den Ausgangswider-
 die Werte für Serum) in Prozent.

KONTRAKTION

DILATATION



Herrn Prof. Dr. K. Wezler möchte
ich für die Überlassung des Themas
der Arbeit und die freundliche Unter-
stützung bei der Durchführung der
Arbeit danken.

Herrn Dr. W. Röckemann sei hier für
seine wertvollen Ratschläge und
seine Anweisung bei der Ausführung
der Arbeit gedankt.

L e b e n s l a u f

Dieter, Klaus, Wolfgang Gruppe, geb. am 17.1.1935
in Frankfurt am Main.

Vater: Dr. R. E. Gruppe, geb. am 29.6.1900 in
Heilbronn. Zahnarzt

Mutter: Antonie Gruppe, geborene Gröbner,
geb. am 2.1.1903 in Gossensaß (Colle Isarco)
Südtirol.

Nach dem Besuch der Volksschule in Frankfurt am Main und Kirchberg in Tirol bestand ich 1946 die Aufnahmeprüfung für die höhere Schule. Bis zum Abschluß der Untersekunda besuchte ich das Liebig - Realgymnasium in Frankfurt am Main. Später war ich Schüler des Helmholtz-Realgymnasiums in Frankfurt am Main, wo ich im Februar 1956 die Reifeprüfung ablegte.

Im Sommersemester 1956 begann ich mit meinem Medizinstudium an der J. W. Goethe Universität in Frankfurt am Main. Dort legte ich im Oktober 1958 meine ärztliche Vorprüfung ab. Meine klinische Ausbildung erhielt ich an den Universitäten München und Frankfurt am Main. Im Januar 1962 beendete ich nach 11 Semestern mein Medizinstudium mit dem Staatsexamen.

Seit dem 1. April 1962 bin ich als Medizinalassistent im St. Marienkrankenhaus, Frankfurt am Main, tätig.

W. Gruppe

Meine akademischen Lehrer waren:

Prof. Dr. W. Bickenbach	Frauenheilkunde
Prof. Dr. G. Bodechtel	Innere Medizin
Prof. Dr. W. Büngeler	Pathologie
Prof. Dr. P. Christ	Innere Medizin
Prof. Dr. M. Czerny	Physik
Prof. Dr. K. Felix	Physiologische Chemie
Prof. Dr. H. Giersberg	Zoologie
Prof. Dr. W. Halbsguth	Botanik
Prof. Dr. K. Herzberg	Hygiene
Prof. Dr. F. Hoff	Innere Medizin
Prof. Dr. P. Holtz	Pharmakologie
Prof. Dr. G. Kahlau	Pathologie
Prof. Dr. K. Kolle	Psychiatrie
Prof. Dr. E. Landes	Dermatologie
Prof. Dr. K. Luff	Gerichtliche Medizin
Prof. Dr. W. Rotter	Pathologie
Prof. Dr. D. Starck	Anatomie
Prof. Dr. K. Wezler	Physiologie
Prof. Dr. Th. Wieland	Chemie
Prof. Dr. Wiskott	Pädiatrie
Prof. Dr. R. Zenker	Chirurgie

Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die der
Medizinischen Fakultät Frankfurt am Main zur
Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem
Titel:

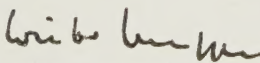
ÜBER DIE DILATATORISCHE WIRKUNG VON
TENSICOR AM ISOLIERTEN KANINCHENOHR

im Institut für animalische Physiologie unter
Leitung von Herrn Direktor Prof. Dr. med. K. Wezler
mit Unterstützung durch Herrn Dr. W. Röckemann
ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei
der Abfassung der Arbeit keine anderen als die
in der Dissertation angeführten Hilfsmittel be-
nutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen
Medizinischen Fakultät ein Gesuch um Zulassung
zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende
oder eine andere Arbeit als Dissertation vorge-
legt.

Die vorliegende Arbeit wurde noch nicht ver-
öffentlicht.

Frankfurt am Main, 1. September 1964


(Dieter Gruppe)

